

胰岛素强化治疗对创伤患者免疫球蛋白、补体及单核细胞噬菌能力的影响

赵晓东 姚咏明 马俊勋 梁华平 闫瑞民 张连阳 黎沾良 何忠杰 邓群 杜俊东 闫柏刚

【摘要】 目的 探讨胰岛素强化治疗对严重创伤患者血清免疫球蛋白与补体水平的变化以及外周血单核细胞大肠杆菌颗粒吞噬能力的影响。方法 采用随机配对原则将外科重症加强治疗病房(ICU)收治的创伤严重度评分(ISS) >20 分的严重创伤患者分为胰岛素强化治疗组(目标血糖值 $4\sim 6$ mmol/L)和常规治疗组(目标血糖值 <11.1 mmol/L)。分别在入院时及入院后 2、4、6 和 8 d 留取外周静脉血,检测血清免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM)与补体(C3、C4)水平的动态变化,全血细胞与用异硫氰酸荧光素(FITC)标记的大肠杆菌共孵育后检测单核细胞噬菌能力。结果 两组严重创伤患者血清 IgA、IgG、IgM 和 C3、C4 水平在入院时均较低,入院治疗后均开始升高,并在治疗 6~8 d 达到或接近正常范围。胰岛素强化治疗后 C3、C4 水平明显低于常规治疗组(P 均 <0.05),并呈现恢复延迟的特点,而血清 IgA、IgG、IgM 水平两组比较差异均无显著性(P 均 >0.05)。强化治疗组患者治疗 4 d 和 6 d 单核细胞大肠杆菌吞噬能力比入院时显著增强,且 2、4 和 6 d 的大肠杆菌 FITC 阳性率均显著高于常规治疗组(P 均 <0.05)。结论 胰岛素强化治疗能明显改善严重创伤后免疫功能,增强单核细胞噬菌能力,是提高患者机体抵抗力的有效方法之一。

【关键词】 创伤; 胰岛素强化治疗; 免疫功能; 单核细胞噬菌能力

Effects of intensive insulin therapy on serum immunoglobulin, complement levels and phagocytosis of monocytes in patients with severe trauma ZHAO Xiao-dong*, YAO Yong-ming, MA Jun-xun, LIANG Hua-ping, YAN Rui-min, ZHANG Lian-yang, LI Zhan-liang, HE Zhong-jie, DENG Qun, DU Jun-dong, YAN Bo-gang. * Emergency and Burns Institute, the First Affiliated Hospital of General Hospital of PLA (formerly 304 th Hospital), Beijing 100037, China
Corresponding author: YAO Yong-ming (Email: c_ff@sina.com)

【Abstract】 **Objective** To investigate the influence of intensive insulin therapy on serum immunoglobulin (Ig), complement levels and phagocytosis of monocytes in patients with severe trauma. **Methods** Severe injured patients with injury severity score (ISS) >20 in surgical intensive care unit (ICU) were randomly divided into two groups, intensive insulin therapy and conventional therapy. Blood glucose levels in intensive insulin therapy and conventional therapy groups were maintained at $4\sim 6$ mmol/L and <11.1 mmol/L, respectively. Blood samples were obtained on 0, 2, 4, 6 and 8 days after admission. Dynamic changes of immunological parameters including serum IgA, IgG, IgM, complements (C3, C4) levels were determined in each group at various intervals following trauma. Phagocytosis of monocytes was also measured by use of phagotest kits after blood cells were incubated with fluorescein isothiocyanate (FITC)-labeled *E. coli* in a heated water bath at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. **Results** Serum IgA, IgG, IgM, C3 and C4 levels were low in two groups at admission, and elevated after treatment with recovery to normal range on 6-8 days. Serum C3 and C4 levels in intensive insulin therapy group were much lower than those in conventional therapy group (both $P < 0.05$) with delayed recovery to normal range. There were no significant differences in serum IgA, IgG and IgM levels between two groups (all $P > 0.05$). For the patients with intensive insulin therapy, phagocytosis of monocytes was markedly enhanced on 4 and 6 days compared with those at admission (both $P < 0.05$), and *E. coli* - FITC positive rates were significantly higher than those with conventional therapy on 2, 4 and 6 days after admission (all $P < 0.05$). **Conclusion** Intensive insulin therapy can markedly improve immune function and enhance phagocytosis of monocytes, which might be used as one of effective methods to increase the host defense ability in traumatic patients.

【Key words】 severe trauma; intensive insulin therapy; immune function; monocytes phagocytosis

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目(2005CB522602);北京市科技计划重大项目(H020920020530);首都医学发展科研重点项目(2003-2023)

作者单位:100037 北京,解放军总医院第一附属医院(原解放军第三〇四医院)急救部(赵晓东,姚咏明,马俊勋,闫瑞民,黎沾良,何忠杰,邓群,杜俊东);400042 重庆,第三军医大学大坪野战外科研究所(梁华平,张连阳);400014 重庆市第三人民医院急诊科(闫柏刚)

通讯作者:姚咏明,教授,博士生导师(Email:c_ff@sina.com)

作者简介:赵晓东(1963-),男(满族),黑龙江省人,医学硕士,副主任医师,主要从事急救、创伤与代谢的研究,发表论文 20 篇。

严重创伤与大手术后高血糖的发生常可导致患者预后不良,近年来胰岛素强化治疗的应用为解决外科应激所致高血糖带来了曙光^[1,2]。采取胰岛素注射控制高血糖简单、有效,胰岛素强化治疗不只是将血糖维持在“可接受水平”,而是不再限制胰岛素用量直至血糖降至正常值(4.4~6.1 mmol/L)。我们通过对比严重创伤患者施行胰岛素强化治疗后血清免疫球蛋白与补体水平变化,以及对外周血单核细胞大肠杆菌颗粒吞噬能力的影响,旨在探讨胰岛素强化治疗对机体免疫功能的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料:选择 2003 年 1 月—2005 年 5 月我院急救中心、外科重症加强治疗病房(ICU)、神经外科 ICU、普外科、重庆第三军医大学大坪医院创伤科以及重庆市第三人民医院急诊科收治的严重创伤患者 64 例。入选条件:①创伤严重度评分(ISS)>20 分;②接诊后 3 次血糖值均>9 mmol/L。采用随机配对原则分为强化治疗组与常规治疗组,每组 32 例患者。配对条件:①ISS 分值差 6 分以内,最重损伤(ISS 区域分值最高)的解剖部位相同;②急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II) 分值差 10 分以内;③年龄差 10 岁以内;④体重差 10 kg 以内;⑤既往无糖尿病与其他慢性病史,本次就诊无胰腺外伤史。

1.2 胰岛素强化治疗方案:强化治疗组患者在入院后建立中心静脉通路,连接微量泵,给予胰岛素 50 U、生理盐水 50 ml;同时采用输液泵输入质量分数为 25% 的葡萄糖溶液纠正治疗中发生的低血糖。初始胰岛素泵入速度 2~4 U/h,目标血糖值 4~6 mmol/L,根据血糖监测值的变化随时调节胰岛素的泵入量^[1]。常规治疗组设计血糖水平控制在 11.1 mmol/L 以下,所需胰岛素随液体输注。除强化

治疗开始阶段血糖监测频繁外,两组检测均间隔 4 h 采样,血样取自动脉留置管或中心静脉。两组患者接受相同热量的胃肠道营养或(和)静脉营养支持。

1.3 血清免疫球蛋白、补体的检测:在患者入院时及治疗后 2、4、6、8 d 分别收集静脉血 2 ml,离心后分离血清,用散射比浊度法测定。

1.4 单核细胞噬菌能力检测:在患者入院时及治疗后 2、4、6 和 8 d 分别收集静脉血 2 ml,肝素抗凝,离心后在分离的细胞成分中加入等量的 RPMI1640 培养液,振荡器充分混匀备用。取 200 μ l 静脉血/RPMI1640,分别加到两个离心管底,每管 100 μ l。0 $^{\circ}$ C 下冰浴 10 min 后,加入 20 μ l 用异硫氰酸荧光素(FITC)荧光标记的大肠杆菌,充分混匀。阴性对照管继续冰浴 10 min,将吞噬检测管放入 37 $^{\circ}$ C 水浴中 10 min;两个试管同时于 0 $^{\circ}$ C 下终止孵育,分别加入 100 μ l 0 $^{\circ}$ C 淬灭液,充分混匀,去除细胞外附着荧光颗粒;加入 3 ml 冲洗液,共 2 次;500 \times g 离心 4 min,弃上清液,加入 2 ml 溶解液,室温避光静置 20 min;500 \times g 离心 4 min,弃上清液,加 3 ml 冲洗液,洗涤 1 次;加 200 μ l DNA 染色液,以避免细胞或细菌聚集成团,60 min 内用流式细胞仪检测。

1.5 统计学处理:数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,应用 Stata8.0 统计软件,组间比较采用 *t* 检验,对不同强化治疗时间(常规治疗组为入院时间)采样所得数据以时间为变量进行单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胰岛素强化治疗后血清免疫球蛋白、补体水平变化(表 1):两组患者血清 IgA、IgG、IgM 和 C3、C4 水平在入院时均较低,治疗后均开始升高,并在 6~8 d 达到或接近正常范围。两组患者间入院时及治疗 2、4、6 和 8 d 血清 IgA、IgG、IgM 水平比较差异

表 1 两组患者血清免疫球蛋白与补体浓度变化($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Change of serum immunoglobulin and complement levels in two groups($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	例数(例)	IgA	IgG	IgM	C3	C4
强化治疗组	入院时	32	0.98 \pm 0.19	6.47 \pm 1.44	0.55 \pm 0.23	1.04 \pm 0.16	0.20 \pm 0.05
	治疗 2 d	32	1.94 \pm 0.25	8.98 \pm 2.05	0.83 \pm 0.39	1.03 \pm 0.24*	0.21 \pm 0.07
	治疗 4 d	32	2.17 \pm 0.28	11.40 \pm 2.79	1.47 \pm 0.24	1.07 \pm 0.19*	0.20 \pm 0.11*
	治疗 6 d	32	2.65 \pm 0.34	10.48 \pm 3.04	1.19 \pm 0.30	1.11 \pm 0.30*	0.22 \pm 0.07*
	治疗 8 d	32	2.35 \pm 0.50	11.22 \pm 2.33	1.21 \pm 0.36	1.39 \pm 0.27	0.29 \pm 0.17
常规治疗组	入院时	32	1.11 \pm 0.23	6.01 \pm 2.01	0.56 \pm 0.19	1.08 \pm 0.29	0.19 \pm 0.14
	治疗 2 d	32	2.02 \pm 0.38	7.99 \pm 1.44	0.84 \pm 0.42	1.27 \pm 0.18	0.26 \pm 0.09
	治疗 4 d	32	2.18 \pm 0.45	11.50 \pm 3.66	1.34 \pm 0.46	1.39 \pm 0.27	0.27 \pm 0.14
	治疗 6 d	32	2.54 \pm 0.41	11.21 \pm 1.99	1.36 \pm 0.25	1.41 \pm 0.36	0.34 \pm 0.12
	治疗 8 d	32	2.49 \pm 0.33	11.30 \pm 2.93	1.23 \pm 0.21	1.46 \pm 0.24	0.33 \pm 0.10

注:与常规治疗组比较:* $P<0.05$

均无显著性;而胰岛素强化治疗组治疗 2、4 和 6 d 补体 C3 活性则均显著低于常规治疗组(P 均 < 0.05),补体 C4 在治疗 4 d 和 6 d 亦明显低于常规治疗组(P 均 < 0.05),呈现出恢复延迟的特点。

2.2 胰岛素强化治疗对单核细胞大肠杆菌颗粒吞噬能力的影响(表 2,图 1):两组患者阴性对照(0℃冰浴)标本单核细胞噬菌阳性率均低于 3%。单因素方差分析显示,常规治疗组吞噬能力变化不明显,但强化治疗后吞噬能力有上升趋势($F=2.0581, P=0.094$)。强化治疗组治疗 4 d 和 6 d 吞噬能力比入院时显著增强;常规治疗组不同时间点间差异无显著性。两组患者入院时单核细胞吞噬大肠杆菌颗粒阳性率差异无显著性;强化治疗可增强单核细胞大肠杆菌吞噬能力,治疗 2、4 和 6 d 时大肠杆菌 FITC 阳性率均显著高于常规治疗组(P 均 < 0.05)。

表 2 两组患者单核细胞大肠杆菌 FITC 吞噬率的比较

Table 2 Comparison of FITC-labeled E. coli bacteria-to-cell ratios of monocytes in two groups

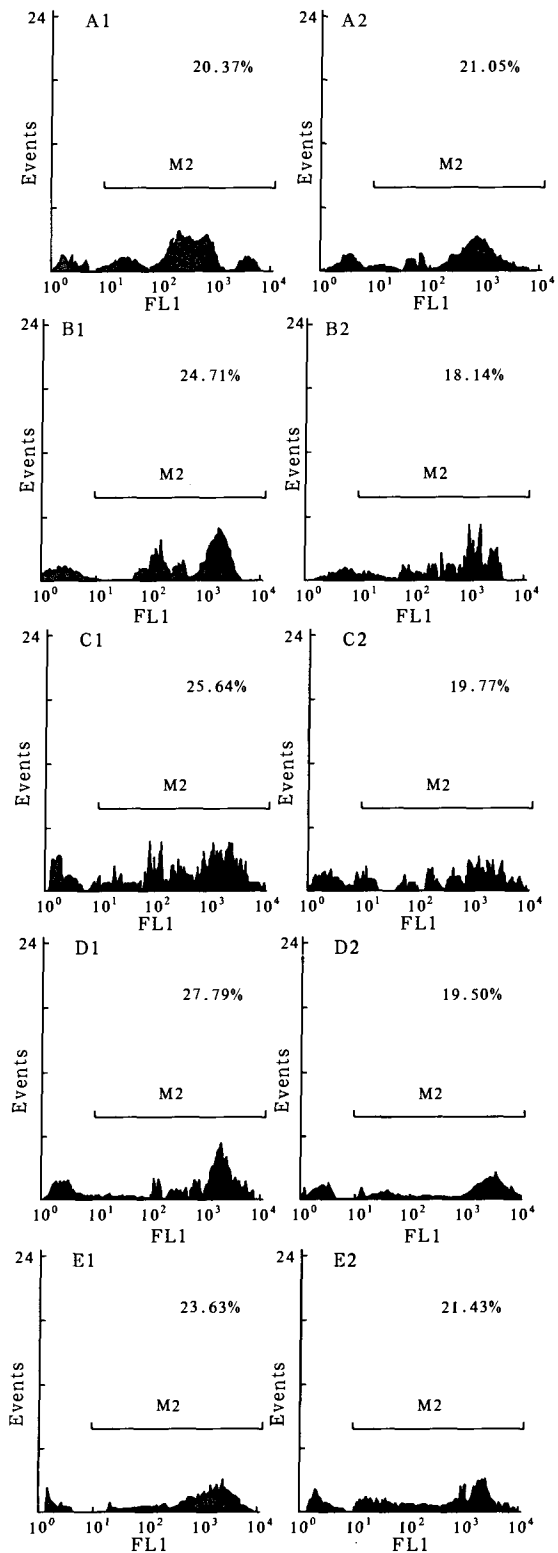
组别	例数(例)	入院时	治疗 2 d	治疗 4 d	治疗 6 d	治疗 8 d
强化治疗组	32	20.37%	24.71%*	25.64%*	27.79%*#	23.63%
常规治疗组	32	21.05%	18.14%	19.77%	19.50%	21.43%

注:与常规治疗组比较,* $P<0.05$;与本组入院时比较,# $P<0.05$

3 讨论

严重创伤患者发生高血糖的实质是应激情况下神经内分泌激素及炎症介质释放而造成的代谢紊乱状态,因此也被称为应激性高血糖^[2]。高血糖的发生提示机体存在高分解代谢状态和对代谢底物利用的改变。据临床统计,严重创伤患者的静息能耗(REE)升高 25%~40%以上^[3]与之对应的是胰岛素敏感组织(骨骼肌、脂肪细胞、肝细胞)对胰岛素调节的迟钝,即发生急性期胰岛素抵抗(IR)。胰岛素可通过增加骨骼肌与肝糖原合成促进循环葡萄糖利用,其中外周组织利用葡萄糖的能力是决定胰岛素作用下葡萄糖清除的关键因素,而创伤后 IR 与急性期高血糖的发生也主要表现为外周葡萄糖利用障碍。尽管葡萄糖转运体(GLUTs)的胰岛素血糖调节信号传递通路并未完全阐明,但 GLUT-4(只存在于骨骼肌)基因表达下降和磷脂酰肌醇-3(PI-3)下游蛋白激酶 B 磷酸化水平减弱可能是重要机制^[4-6],是由于创伤或感染后释放的炎症介质如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等的直接作用所致^[7]。

机体遭遇严重创伤后出现的高分解代谢和 IR 属于机体自身防御反应的一部分,它能最大限度提供组织修复和炎症细胞使用的代谢产物,并满足器



注:A~E 分别为入院前,治疗 2、4、6 和 8 d;

1:强化治疗组;2:常规治疗组

图 1 两组患者不同时间点单核细胞大肠杆菌 FITC 吞噬率改变

Figure 1 Change of FITC-labeled E. coli bacteria-to-cell ratios of monocytes at different time points in two groups
 官蛋白质合成(如肝脏免疫球蛋白与纤维蛋白)的需

要。但这一代谢平衡的打破会对机体造成直接危害,如在 ICU 中发生的高血糖即被认为是预后不良的直接诱因,其持续存在将放大全身炎症反应、诱发感染、影响组织修复、延迟脑功能恢复、导致免疫抑制等,增加器官功能不全的发生率和病死率^[8-11]。证实胰岛素强化治疗是控制 ICU 和危重病患者急性期高血糖的有效措施,可以保护器官功能和有效降低危重病患者病死率^[12-14],但其确切作用机制尚未完全阐明,除控制血糖、降低高代谢、减轻炎症反应外,是否影响机体的免疫功能仍有待澄清。

本资料显示,两组患者创伤早期血清补体 C3、C4 和免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM 均处于较低水平,伤后 1 周上述指标逐渐恢复正常。早期免疫球蛋白下降的直接原因可能是血容量丧失、血管通透性增加和早期免疫激活后的消耗等。作为体内最重要的促合成激素,胰岛素强化治疗反而迟滞了血清补体恢复到正常范围的时间,可能机制包括骨骼肌蛋白分解抑制,肝脏产生免疫蛋白的底物来源受限,而合成代谢的活跃又导致对底物利用的竞争。补体的免疫调理作用能增强白细胞噬菌能力,本实验观察到,胰岛素治疗同时并存单核细胞噬菌增多而补体水平升高缓慢,显示胰岛素对白细胞免疫功能调节机制可能独立于免疫调理效应^[2]。研究证实,单核细胞吞噬革兰阴性菌依赖于细胞表面脂多糖(LPS)受体 CD14⁺ 正常表达^[15],本组实验中同样未观察到两组间 CD14⁺ 表达存在差异(结果另发表)。有报道指出,胰岛素治疗后能提高中性粒细胞噬菌能力 50%~100%,提高单核细胞吞噬能力 150%^[15,16],但这一吞噬能力增强仅限于在高血糖损害的吞噬功能基础上,而对吞噬能力正常的细胞群无作用。

本研究显示,实施胰岛素强化治疗 2~6 d 后,单核细胞大肠杆菌颗粒吞噬能力较常规治疗组提高了 29.7%~42.5%,治疗 8 d 两组吞噬能力未显示出明显差异。胰岛素也同时恢复了白细胞的化学趋化、氧化杀菌等天然免疫功能,机制可能是通过增强细胞表面 CD11b、CD15、CD62L 和 CD8 等分子表达,与降低血糖作用无关^[15]。本研究中胰岛素提高单核细胞吞噬能力的幅度较低,考虑是选择的创伤患者虽发生了急性期应激性高血糖,但存在隐性糖

尿者较多,白细胞免疫功能受损程度不能与接受心血管手术患者相比^[16]。胰岛素强化治疗可能是有效改善免疫功能、提高患者机体抵抗力的方法之一,其确切临床意义及应用价值有待深入探讨。

参考文献:

- 1 van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, et al. Intensive insulin therapy in the critically ill patients[J]. N Eng J Med, 2001, 345(19):1359-1367.
- 2 赵晓东,孟海东,姚咏明. 创伤后胰岛素抵抗与血糖控制治疗[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(12):766-768.
- 3 Chioloro R, Revely J P, Tappy L. Energy metabolism in sepsis and injury[J]. Nutrition, 1997, 13(9 Suppl):45S-51S.
- 4 Nelson K M, Filkins J P. Effect of traumatic injury on sensitivity to insulin[J]. Circ Shock, 1979, 6(3):285-295.
- 5 Lawlor M A, Alessi D R. PKB/Akt, a key mediator of cell proliferation, survival and insulin responses[J]? J Cell Sci, 2001, 114(Pt 16):2903-2910.
- 6 Shulman G I. Cellular mechanisms of insulin resistance[J]. J Clin Invest, 2000, 106(2):171-176.
- 7 Rask-Madsen C, Dominguez H, Ihlemann N, et al. Tumor necrosis factor - α inhibits insulin's stimulating effect on glucose uptake and endothelium - dependent vasodilation in humans[J]. Circulation, 2003, 108(15):1815-1821.
- 8 Gore D, Chinkes D, Hegggers J, et al. Association of hyperglycemia with increased mortality after severe burn injury [J]. J Trauma, 2001, 51(3):540-544.
- 9 Bochicchio G V, Sung J, Joshi M, et al. Persistent hyperglycemia is predictive of outcome in critically ill trauma patients [J]. J Trauma, 2005, 58(5):921-924.
- 10 Teixeira A S, Andrade S P. Glucose-induced inhibition of angiogenesis in the rat sponge granuloma is prevented by aminoguanidine[J]. Life Sci, 1999, 64(8):655-662.
- 11 赵晓东,孟海东,姚咏明,等. 严重创伤患者早期胰岛素强化治疗对血清炎症介质水平的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17(7):406-408.
- 12 赵晓东,梁华平,孟海东,等. 胰岛素强化治疗对急性重型颅脑损伤患者脑脊液乳酸代谢的影响[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(6):559-561.
- 13 姚咏明,柴家科,林洪远. 现代脓毒症理论与实践[M]. 北京:科学出版社, 2005:371-386.
- 14 王灵聪,雷澍,吴艳春,等. 危重病患者抢救中胰岛素强化治疗的探讨[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(12):748-750.
- 15 Walrand S, Guillet C, Boirie Y, et al. In vivo evidences that insulin regulates human polymorphonuclear neutrophil functions[J]. J Leukoc Biol, 2004, 76(6):1104-1110.
- 16 Rassias A J, Marrin C A, Arruda J, et al. Insulin infusion improves neutrophil function in diabetic cardiac surgery patients [J]. Anesth Analg, 1999, 88(5):1011-1016.

(收稿日期:2007-01-06 修回日期:2007-04-10)

(本文编辑:李银平)

更正:本刊 2006 年 10 期发表张英谦的论文《D-乳酸和二胺氧化酶对呼吸衰竭患儿胃肠功能障碍的监测意义》中,作者单位更正为:河北医科大学,现工作单位河北省儿童医院;通讯作者:李佃贵,教授,博士生导师,工作单位为河北省中医院(E-mail:drzhyb@sina.com)。

(本刊编辑部)